



Research / Review Article



## PENGARUH WAKTU SANGRAI TERHADAP KADAR KAFEIN PADA BIJI KOPI ARABIKA DENGAN METODE ANALISIS KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)

### EFFECT OF ROASTING TIME ON CAFFEINE CONTENT IN ARABICA COFFEE BEANS BY ANALYTICAL METHOD HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

Nurkholifaturrohmah<sup>1\*</sup>, Melania Perwitasari<sup>2</sup>, Intan Kurnia Putri<sup>3</sup>, Maya Uzia Beandrade<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup> Program Studi S1 Farmasi, STIKes Mitra Keluarga, Bekasi, Jawa Barat, Indonesia

[\\*kholifah563@gmail.com](mailto:*kholifah563@gmail.com)

INFORMASI ARTIKEL	ABSTRAK
<p><b>Article history</b> Submitted: 18 - 11 - 2025 Accepted: 16 - 04 - 2026 Published: 30 - 06 - 2026 DOI : <a href="https://doi.org/10.47522/jmk.v8i2.456">https://doi.org/10.47522/jmk.v8i2.456</a></p> <p><b>Kata Kunci:</b> <i>Coffea arabica</i> L.; dekafeinasi; kafein; KCKT; waktu sangrai</p> <p><b>Keywords :</b> <i>Coffea arabica</i> L.; decaffeination; caffeine; HPLC; roasting time</p>	<p><b>Pendahuluan:</b> Kafein merupakan senyawa alkaloid yang bila digunakan berlebihan akan berbahaya bagi kesehatan. Salah satu faktor yang diduga mempengaruhi kadar kafein dalam kopi adalah proses pengolahan, khususnya waktu sangrai. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan pada pengaruh variasi waktu sangrai terhadap kadar kafein dalam kopi. <b>Metode:</b> Penelitian ini dilakukan secara kuantitatif eksperimental. Biji kopi arabika disangrai pada suhu 220°C selama 10 menit, 15 menit, 20 menit, dan kopi <i>green bean</i> (tidak disangrai) sebagai pembanding, yang dianalisis dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan fase gerak aquades : metanol (75:25), kolom C18, kecepatan alir 1mL/menit, dan <math>\lambda_{max}</math> 273nm. Penetapan kadar kafein dilakukan dengan metode analisis KCKT yang telah diverifikasi. <b>Hasil:</b> Kadar air pada kopi <i>green bean</i>, waktu sangrai 10 menit, 15 menit, 20 menit, berturut-turut adalah 9,04%,1,93%, 1,63%, dan 1,44%. Analisis kadar kafein dilakukan menggunakan metode KCKT yang telah terverifikasi. Rata-rata kadar kafein kopi <i>green bean</i>, waktu sangrai 10 menit, 15 menit, dan 20 menit berturut-turut adalah 0,0065%, 0,0096%, 0,0088%, 0,0074%. Nilai signifikansi 0,000 (<i>p-value</i> &lt;0,05) yang berarti terdapat perbedaan kadar kafein yang nyata antar perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa waktu sangrai mempengaruhi kadar kafein dalam kopi. <b>Kesimpulan:</b> Perbedaan waktu sangrai memberikan pengaruh nyata terhadap kadar kafein kopi arabika, dengan perubahan yang menunjukkan adanya peningkatan pada fase awal sangrai, kemudian diikuti penurunan pada waktu sangrai selanjutnya.</p>

### ABSTRACT

**Introduction :** Caffeine is an alkaloid compound that can be harmful to health if consumed in excess. One factor believed to influence caffeine levels in coffee is the processing method, particularly the roasting time. Therefore, this study focuses on the effect of varying roasting times on caffeine levels in coffee. **Method:** This study was conducted as a quantitative experimental study. Arabica coffee beans were roasted at 220°C for 10 minutes, 15 minutes, and 20 minutes, with green coffee beans (unroasted) serving as a control. The samples were analyzed by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) using a mobile phase of distilled water:methanol (75:25), a C18 column, a flow rate of 1 mL/min, and  $\lambda_{max}$  273 nm. Caffeine content was determined using a verified HPLC analysis method. **Result:** The moisture content of green coffee beans roasted for 10 minutes, 15 minutes, and 20 minutes was 9.04%, 1.93%, 1.63%, and 1.44%, respectively. Caffeine content analysis was performed using a validated HPLC method. The average caffeine content of green coffee beans at roasting times of 10 minutes, 15 minutes, and 20 minutes, respectively, was 0.0065%, 0.0096%, 0.0088%, and 0.0074%. A significance value of 0.000 ( $p < 0.05$ ) indicates a significant difference in caffeine content among the treatments, suggesting that roasting time affects the caffeine content in coffee. **Conclusion:** Differences in roasting time have a significant effect on the caffeine content of Arabica coffee, with changes showing an increase during the early stages of roasting, followed by a decrease as roasting progresses.

### PENDAHULUAN

Kopi merupakan salah satu minuman yang banyak dikonsumsi oleh berbagai kalangan karena kandungan kafeinnya yang memberikan efek stimulasi pada sistem saraf pusat. Kafein sebagai senyawa alkaloid golongan methylxantine dapat meningkatkan kewaspadaan, namun konsumsi berlebih berpotensi menimbulkan efek samping seperti gangguan kecemasan, sakit kepala, jantung berdebar, serta gangguan pencernaan (Elfariyanti *et al.*, 2020; Mierza *et al.*, 2023). Konsumsi kafein yang tinggi juga dikaitkan dengan gangguan tidur dan ketergantungan terhadap kafein (Adeleye *et al.*, 2023; Abdoli *et al.*, 2024; Utari, 2020). Oleh karena itu, kadar kafein dalam kopi menjadi parameter penting yang perlu diperhatikan.

Kadar kafein dalam kopi dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah proses sangrai. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa variasi waktu sangrai dapat mempengaruhi kadar kafein. Pamungkas *et al.* (2021) melaporkan penurunan kadar kafein pada kopi arabika seiring bertambahnya waktu sangrai pada suhu 210°C. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Suci *et al.* (2024) pada kopi robusta dengan suhu 200°C, serta Heriana *et al.* (2023) yang menunjukkan kecenderungan penurunan kadar kafein pada waktu sangrai yang lebih lama. Namun demikian, hasil penelitian tersebut belum sepenuhnya konsisten dan umumnya masih menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yang memiliki keterbatasan dalam selektivitas dan sensitivitas.

Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menganalisis pengaruh waktu sangrai terhadap kadar kafein, khususnya pada kopi arabika, dengan

metode analisis yang lebih akurat. Kopi arabika dipilih karena memiliki kadar kafein yang relatif lebih rendah dibandingkan jenis kopi lainnya, sehingga perubahan kadar kafein akibat proses sangrai dapat dilakukan dengan baik tanpa mengurangi kualitasnya. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) digunakan karena memiliki kemampuan pemisahan yang tinggi serta sensitivitas dan selektivitas yang lebih baik dalam menganalisis senyawa dalam matriks kompleks dibandingkan spektrofotometri UV-Vis, sehingga dapat menghasilkan data yang lebih akurat (Susanti *et al.*, 2019).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi waktu sangrai terhadap kadar kafein pada biji kopi arabika menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), serta memperoleh data yang akurat dalam menjelaskan perubahan kadar kafein selama proses sangrai. Keterbaruan penelitian ini terletak pada penggunaan KCKT sebagai metode analisis yang lebih selektif dan sensitif dalam mengevaluasi perubahan kadar kafein akibat variasi waktu sangrai.

## **METODE PENELITIAN**

Pada penelitian ini memakai desain penelitian eksperimental. Variabel yang diamati yaitu variabel bebas, variabel terikat, dan variabel terkontrol. Penelitian ini didukung oleh variabel terkontrol yaitu suhu sangrai sebesar 220°C, dengan komposisi fase gerak menggunakan aquades : metanol (75 : 25). Suhu 220°C dipilih karena termasuk ke dalam tingkatan *dark roast* yang merupakan tingkatan *roasting* tertinggi. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama waktu sangrai, yaitu 10 menit, 15 menit, dan 20 menit, sedangkan variabel terikatnya adalah kadar kafein. Fase gerak yang digunakan berupa campuran aquades dan metanol dengan perbandingan 75 : 25 karena komposisi tersebut memberikan keseimbangan antara waktu retensi dan kecepatan elusi kafein. Aquades berperan dalam mempertahankan polaritas fase gerak, sedangkan metanol meningkatkan kekuatan elusi sehingga pemisahan kafein berlangsung lebih optimal. (Saputri dan Muchtaridi, 2018).

## **ALAT DAN BAHAN**

Penelitian ini menggunakan instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) fase terbalik dengan detektor UV (*Agilent Technologies 1220 Infinity II LC*), pompa *rocker*, *vacuum degasser*, kolom oktadesil silika C18 dimensi 2,1 x 50 mm, spektrofotometri UV-Vis (*Genesys 10S*), neraca analitik (*Ohaus*), spuit *filter* ukuran pori 0,45 µm, membran filter dengan pori 0,2 µm, spuit 1 mL, mikropipet (*Socorex*), *blue tip*, *yellow tip*, ultrasonik, *hotplate*, dan alat yang terbuat dari kaca, mesin *roasting* (*Maestro Mozart*), mesin *grinder* (*Maestro MTX 600*).

Bahan yang digunakan meliputi biji kopi arabika, aquades steril (*Water One*), metanol pro HPLC (*Fisher*), kobalt nitrat (*Merck*), ammonia encer 10% (*Merck*), standar kafein (*Carbosynth*), dan MgO (*Merck*).

## **DETERMINASI TANAMAN**

Tanaman yang digunakan adalah biji kopi arabika segar diperoleh dari Perkebunan Sukamakmur, Kabupaten Bogor dengan dilakukan uji determinasi di Laboratorium Biologi Universitas Indonesia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Depok.

## **PROSES PENYANGRAIAN**

Kopi arabika dalam bentuk *green bean* disangrai sebanyak 500 gram pada suhu 220°C dengan tiga waktu yang berbeda yaitu 10 menit, 15 menit, dan 20 menit. Terdapat juga biji kopi *green bean* (tidak disangrai) sebanyak 500 gram sebagai pembanding. Selanjutnya, seluruh biji kopi digiling hingga menjadi serbuk halus dan diayak menggunakan mesh no. 40. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Serbuk sampel kemudian diayak menggunakan mesh No. 40 untuk memperoleh ukuran partikel yang seragam, yaitu sekitar 0,400 mm. Ukuran partikel tersebut termasuk dalam kategori sedang-halus sehingga dapat meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. (Wulansari dan Evangelista, 2019).

## **UJI KADAR AIR**

Uji kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *moisture analyzer*. Bubuk kopi ditimbang sebanyak 1 gram di dalam alat *moisture analyzer* pada suhu 105°C. Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan dihitung nilai rata-rata kadar air pada bubuk kopi.

## **PREPARASI SAMPEL**

Aquades steril sebanyak 40 mL dipanaskan hingga suhu mencapai 90°C, kemudian bubuk kopi arabika ditambahkan ke dalam aquades panas sebanyak 200 mg, dan dicampur dengan 2 gram MgO. Selanjutnya dilakukan pengadukan dengan *magnetic stirrer* selama 20 menit pada suhu 90°C, kemudian didinginkan pada suhu 20°C - 25°C dan larutan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades sampai batas tanda. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

## **ANALISIS KUALITATIF**

Reagen parry dibuat dengan melarutkan 0,25 gram kobalt nitrat dengan metanol 16 mL, dan dimasukkan ke labu takar 50 mL, lalu dihomogenkan dengan menambahkan aquades hingga batas tanda (Johannes *et al.*, 2021).

Filtrat sampel yang telah diperoleh diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL reagen Parry serta 10 tetes larutan amonia encer 10%. Sampel yang mengandung kafein akan menunjukkan perubahan warna menjadi biru tua atau hijau. Identifikasi menggunakan reagen Parry juga dilakukan terhadap larutan standar kafein sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif. Seluruh pengujian dilakukan dengan tiga kali replikasi (Rahmawati dan Gustiani, 2023).

### **PEMBUATAN FASE GERAK**

Fase gerak yang dipakai adalah aquades : metanol (75 : 25). Pencampurannya dilakukan didalam sistem KCKT (Perwitasari dan Beandrade, 2020).

### **PEMBUATAN LARUTAN INDUK KAFEIN**

Larutan induk kafein dibuat konsentrasi 200 ppm dengan cara melarutkan standar kafein 10 mg ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian ditambahkan aquades panas dengan suhu 90°C sampai setengah volume labu, lalu disonikasi 10 menit hingga larut sempurna, kemudian ditambahkan aquades hingga tanda batas, dan dihomogenkan (Maskar dan Faisal, 2022).

### **PEMBUATAN LARUTAN SERI BAKU KAFEIN**

Larutan induk kafein diambil masing-masing sejumlah 0,3 mL; 0,4 mL; 0,5 mL; 0,6 mL; 0,7 mL; dan 0,8 mL sesuai dengan konsentrasinya, yakni 6 ppm; 8 ppm; 10 ppm; 12 ppm; 14 ppm; dan 16 ppm. Selanjutnya, larutan dimasukkan ke labu takar 10 mL dan dilarutkan dengan aquades hingga tanda batas. Kemudian, disaring memakai spuit filter 0,45 µm lalu gelembung udara dihilangkan selama 10 menit memakai ultrasonikator (Abur, 2021).

### **UJI KUANTITATIF**

#### **OPTIMASI PANJANG GELOMBANG**

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan dengan mengambil 0,5 mL larutan induk standar ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan aquades hingga batas tanda, sehingga menghasilkan larutan standar dengan konsentrasi 10 ppm. Serapan larutan tersebut kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 200–400 nm. Panjang gelombang maksimum yang diambil adalah panjang gelombang yang memberikan nilai absorbansi paling tinggi yang dapat dipakai pada sistem KCKT (Kusmiyanti *et al.*, 2023).

#### **VERIFIKASI METODE**

Verifikasi metode dilakukan menggunakan KCKT fase terbalik dengan detektor UV (*Agilent Technologies 1220 Infinity II LC*), dan kolom oktadesil C18. Semua pengukuran dilakukan dengan laju alir fase gerak 1 mL/menit, dan volume injeksi sebanyak 20 µL, serta menggunakan panjang gelombang hasil optimasi (Perwitasari dan Beandrade, 2020).

#### **UJI LINIERITAS**

Larutan standar seri dibuat pada konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, dan 16 ppm. Setiap larutan kemudian diinjeksikan ke dalam sistem KCKT sebanyak tiga kali replikasi. Selanjutnya, dibuat kurva baku dengan memplotkan konsentrasi terhadap luas area kromatogram untuk mengevaluasi linearitas metode. Metode

dinyatakan memiliki linearitas yang baik apabila diperoleh nilai koefisien determinasi ( $R^2$ )  $\geq 0,98$  (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

### UJI SELEKTIFITAS

Sejumlah 1 mL sampel disaring memakai spuit filter 0,45  $\mu\text{m}$ , kemudian dimasukkan ke vial, lalu diinjeksikan ke sistem KCKT. Larutan standar kafein dengan konsentrasi 10 ppm dipipet sejumlah 0,3 mL setelah itu dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas dan disaring memakai spuit filter 0,45  $\mu\text{m}$ , kemudian diinjeksikan ke sistem KCKT. Larutan standar kafein dengan konsentrasi 10 ppm dipipet sebanyak 0,3 mL ditambahkan 1 mL sampel, lalu dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL, dan tambahkan aquades sampai batas tanda kemudian disaring memakai spuit filter 0,45  $\mu\text{m}$ . Uji selektifitas dinyatakan dalam nilai resolusi ( $R_s$ ), pemisahan dua senyawa yang baik apabila nilai  $R_s \geq 2$ .

### UJI LOD DAN LOQ

Larutan standar kafein dengan konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, dan 14 ppm diinjeksikan ke dalam sistem KCKT untuk memperoleh kurva kalibrasi. Penentuan batas deteksi (*Limit of Detection/LOD*) dan batas kuantitasi (*Limit of Quantitation/LOQ*) dilakukan berdasarkan nilai simpangan baku *intersep* ( $S_a$ ) dan kemiringan kurva (*slope*,  $b$ ) yang diperoleh dari persamaan regresi linier. Nilai LOD dan LOQ kemudian dihitung menggunakan rumus  $LOD = 3,3 \frac{S_a}{b}$  dan  $LOQ = 10 \frac{S_a}{b}$ .

### UJI PRESISI

Larutan standar baku kafein dengan konsentrasi 200 ppm dipipet sejumlah 0,3 mL; 0,5 mL; dan 0,7 mL, kemudian ditambahkan 1 mL sampel, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, dan tambahkan aquades sampai tanda batas, sehingga konsentrasi yang diperoleh masing-masing adalah 6 ppm; 10 ppm; dan 14 ppm. Selanjutnya larutan disaring memakai spuit filter 0,45  $\mu\text{m}$  dan diinjeksikan ke sistem KCKT, serta dilakukan sebanyak 3 replikasi. Diperoleh data waktu retensi, luas area, dan tinggi puncak untuk masing-masing konsentrasi. Uji presisi dilakukan dengan menghitung nilai RSD. Syarat RSD yaitu  $\leq 7,3\%$  untuk kadar analit 10 ppm (AOAC, 2016).

### UJI AKURASI

Metode akurasi yang digunakan pada penelitian ini adalah standar adisi. Larutan standar baku kafein dengan konsentrasi 200 ppm dipipet sejumlah 0,3 mL; 0,5 mL; dan 0,7 mL, kemudian ditambahkan 1 mL sampel, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, dan tambahkan aquades sampai tanda batas, sehingga konsentrasi yang diperoleh masing-masing adalah 6 ppm; 10 ppm; dan 14 ppm. Selanjutnya larutan disaring memakai spuit filter 0,45  $\mu\text{m}$  dan diinjeksikan ke sistem KCKT, lakukan sebanyak 3 replikasi. Diperoleh data waktu retensi, luas area, dan tinggi puncak untuk masing-masing konsentrasi. Uji akurasi dilakukan dengan menghitung persen perolehan kembali (*%recovery*). Syarat *% recovery* yaitu 80-110% untuk kadar sampel 10 ppm (AOAC, 2016).

## PENETAPAN KADAR KAFEIN PADA BIJI KOPI ARABIKA

Filtrat sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan aquades hingga batas tanda dan disaring memakai spuit filter 0,45  $\mu\text{m}$ , lalu dimasukkan ke dalam vial, kemudian diinjeksikan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  ke sistem KCKT menggunakan fase gerak aquades : metanol dengan laju alir yang sama, serta  $\lambda_{\text{max}}$  273 nm. Masing-masing sampel dianalisis sebanyak 3 replikasi. Luas area yang diperoleh dari hasil analisis dicatat, kemudian digunakan untuk menyusun persamaan regresi linier, yaitu  $y = 46,96x + 24,94$ . Persamaan tersebut selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar kafein dalam sampel.

## PENGOLAHAN DAN ANALISIS DATA

Data yang diperoleh berupa data skala rasio dan dianalisis menggunakan pendekatan parametrik. Sebelum dilakukan analisis, data diuji terlebih dahulu menggunakan uji normalitas dan homogenitas. Data dinyatakan berdistribusi normal dan homogen apabila nilai  $p\text{-value} > 0,05$  (Noerfitri *et al.*, 2023).

Selanjutnya, analisis dilakukan menggunakan uji *One-way* ANOVA untuk mengevaluasi perbedaan rata-rata kadar kafein pada beberapa kelompok waktu sangrai. Uji ini digunakan untuk menentukan ada atau tidaknya pengaruh signifikan variasi waktu sangrai terhadap kadar kafein. Tingkat signifikansi yang digunakan adalah  $p < 0,05$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN DETERMINASI TANAMAN

Determinasi tanaman merupakan langkah awal yang dilakukan sebelum melanjutkan ke tahap berikutnya dalam proses penelitian. Uji determinasi pada sampel kopi dilakukan untuk memastikan keaslian dan validitas identifikasi tanaman yang digunakan dalam penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Indonesia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Depok. Hasil uji determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang termasuk dalam famili Rubiaceae. Hasil uji determinasi tanaman disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Determinasi Tanaman

Dugaan Spesimen	Hasil Identifikasi	
	Spesies	Famili
Kopi Arabika / <i>Coffea arabica</i> L.	<i>Coffea arabica</i> L.	Rubiaceae

Hasil uji determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah kopi arabika dengan spesies *Coffea arabica* L. dan dengan famili *Rubiaceae*. Secara umum, *Coffea arabica* L. memiliki karakteristik morfologi berupa bentuk pohon tipe semak dengan tinggi dapat mencapai 5–6 meter, daun berbentuk oval dengan ujung meruncing, serta buah berbentuk bulat hingga oval dengan endokarp keras dan eksokarp tipis (Firmansyah *et al.*, 2024; Randriani dan Dani, 2018). Karakteristik tersebut mengonfirmasi kesesuaian identitas sampel yang digunakan dalam penelitian ini.

## UJI KADAR AIR

Kadar air termasuk parameter fisik yang penting dalam menentukan kualitas kopi maupun bubuk kopi. Kadar air yang rendah berkontribusi terhadap peningkatan ketahanan penyimpanan dengan menghambat pertumbuhan mikroorganisme, sedangkan kadar air yang tinggi dapat mempercepat kerusakan bubuk kopi melalui mekanisme degradasi biologis dan kimiawi (Puspitasari, 2020). Hasil pengukuran kadar air pada sampel serbuk kopi dapat dilihat pada tabel 2.

Pada tabel 2, kadar air tertinggi terdapat pada sampel *green bean* dengan nilai rata-rata 9,04%, sedangkan kadar air terendah diperoleh pada sampel sangrai 20 menit sebesar 1,44%. Tingginya kadar air pada *green bean* disebabkan karena sampel belum mengalami proses penyangraian dan masih mengandung air hasil pengeringan awal (Wiraputra, 2024). Hasil ini sejalan dengan penelitian Zainuri *et al.* (2023) yang melaporkan kadar air *green bean* berkisar antara 8,11%–9,09%. Sebaliknya, penurunan kadar air pada sampel yang disangrai menunjukkan bahwa proses pemanasan berperan dalam menguapkan kandungan air, sebagaimana juga dilaporkan oleh Sihombing *et al.* (2022) dengan kadar air kopi sangrai 20 menit sebesar 1,54%.

**Tabel 2. Data Pengukuran Kadar Air Pada Sampel Kopi**

Sampel Kopi	Kadar Air (%)			$\bar{x}$	SD	%RSD	Sig.
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III				
<i>Green bean</i>	9,23	8,81	9,07	9,04	0,2120	2,3457	0,000
S10 menit	1,89	1,91	1,99	1,93	0,0529	2,7417	
S15 menit	1,62	1,68	1,58	1,63	0,0503	3,0942	
S20 menit	1,45	1,43	1,44	1,44	0,01	0,6944	

Keterangan :

S : Sangrai,  $\bar{x}$  : rata-rata, %RSD : persen *relative standard deviasi*

SD : Standar Deviasi, Sig. : nilai signifikansi (p-value)

Nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ) menunjukkan terdapat perbedaan kadar air sampel kopi antar perlakuan.

Berdasarkan Tabel 2, seluruh sampel memenuhi persyaratan kadar air menurut SNI 01-2907-2008, yaitu kadar air maksimum 12,5% untuk *green bean* dan maksimum 7% untuk kopi sangrai. Nilai rata-rata kadar air *green bean* sebesar 9,04%, sedangkan kopi sangrai selama 10, 15, dan 20 menit berturut-turut sebesar 1,93%, 1,63%, dan 1,44%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyangraian, kadar air kopi cenderung semakin menurun akibat proses penguapan air selama pemanasan.

Hasil uji presisi menunjukkan bahwa nilai %RSD pada sampel *green bean*, S10 menit, dan S15 menit masing-masing sebesar 2,3457%; 2,7417%; dan 3,0942%, sedangkan pada sampel S20 menit sebesar 0,6944%. Berdasarkan kriteria presisi, nilai %RSD yang lebih tinggi menunjukkan variasi antar replikasi yang lebih besar sehingga tingkat presisi pengukuran menjadi lebih rendah. Sebaliknya, nilai %RSD yang rendah pada sampel S20 menit menunjukkan hasil pengukuran yang lebih konsisten. Ariyanto *et al.* (2024).

Hasil uji statistik menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ( $p\text{-value} < 0,05$ ), yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar air yang signifikan antarperlakuan waktu penyangraian. Hal ini mengindikasikan bahwa lama waktu sangrai memberikan pengaruh nyata terhadap kadar air pada sampel kopi (Pamungkas *et al.*, 2021).

## UJI KUALITATIF

Uji kualitatif kafein terhadap sampel kopi dilakukan untuk mengetahui kebenaran sampel dengan menggunakan reaksi warna. Uji kualitatif dilakukan dengan metode Parry. Hasil pengujian uji kualitatif kafein dengan menggunakan metode Parry dapat dilihat pada tabel 3 dan gambar 1.

Pengujian kualitatif kafein dilakukan dengan penambahan reagen Parry sebanyak 1 mL dan ammonia encer sebanyak 10 tetes pada filtrat sampel. Penambahan ammonia bertujuan menciptakan suasana basa yang mendukung pembentukan kompleks antara ion kobalt ( $\text{Co}^{2+}$ ) dan kafein, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau. Pengujian ini menggunakan kontrol positif berupa larutan standar kafein dan kontrol negatif berupa aquades sebagai pembanding reaksi.

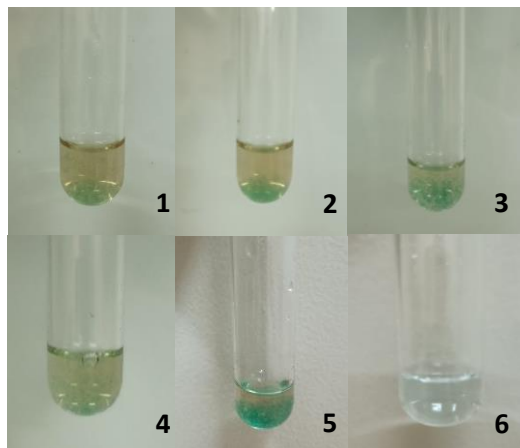
Reagen Parry dipilih karena memiliki tingkat spesifisitas yang lebih baik terhadap kafein dibandingkan reagen Dragendorff. Reagen Dragendorff diketahui dapat bereaksi dengan berbagai jenis alkaloid sehingga kurang selektif dalam identifikasi kafein (Rahmawati dan Gustiani, 2023). Dalam suasana basa, kafein akan berikatan dengan ion kobalt membentuk kompleks berwarna hijau yang digunakan sebagai indikator keberadaan kafein.

**Tabel 3. Hasil Pengujian Kualitatif Kafein Metode Parry**

Sampel Kopi	Hasil Uji Kualitatif	Kandungan Kafein
<i>Green bean</i>	Hijau	+
S10 menit	Hijau	+
S15 menit	Hijau	+
S20 menit	Hijau	+
Kontrol positif (Larutan baku kafein)	Hijau	+
Kontrol negatif (Aquades)	Bening	-

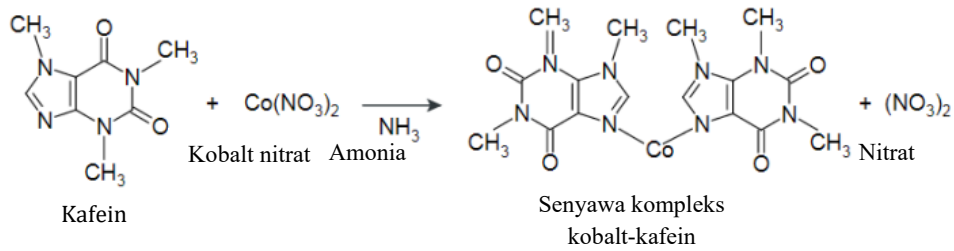
Keterangan :

S: Sangrai, +: Positif, -: Negatif



**Gambar 1. Uji Kualitatif Kafein (1) Kopi *Green Bean* (2) Penyangraian 10 menit (3) Penyangraian 15 menit (4) Penyangraian 20 menit (5) Kontrol Positif (6) Kontrol Negatif**

Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa seluruh sampel kopi arabika, baik *green bean* maupun hasil sangrai (10, 15, dan 20 menit), menunjukkan perubahan warna hijau yang serupa dengan kontrol positif. Hal ini mengindikasikan bahwa seluruh sampel yang diuji positif mengandung kafein. Hasil tersebut juga sesuai dengan penelitian Johannes *et al.* (2021) dan Susanti *et al.* (2019) yang melaporkan perubahan warna serupa pada uji kualitatif menggunakan reagen Parry.



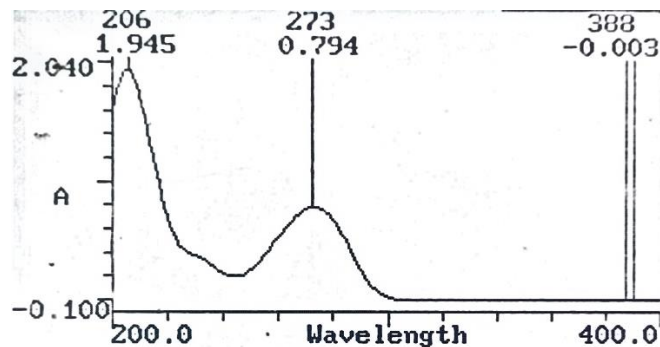
**Gambar 2. Reaksi Kafein Dengan  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$**   
(Widhyani *et al.*, 2021)

### UJI KUANTITATIF

Analisis kafein dengan metode KCKT dilakukan dengan menggunakan fase diam berupa kolom oktadesil C18 yang bersifat nonpolar dan fase gerak berupa campuran aquades:metanol (75:25) yang memiliki indeks kepolaran sebesar 8,15 menunjukkan bahwa fase gerak yang digunakan memiliki polaritas yang lebih rendah dari aquades, tetapi tetap lebih tinggi dari metanol. Hal ini menunjukkan bahwa KCKT yang digunakan berjenis fase terbalik dikarenakan fase gerak yang digunakan lebih polar dibandingkan fase diam. Kafein memiliki karakteristik kelarutan yang cukup baik dalam pelarut polar maupun semi-polar, sehingga dapat berinteraksi dengan fase gerak dan fase diam dalam sistem kromatografi. Dalam sistem fase terbalik, interaksi kafein dengan fase diam C18 yang bersifat hidrofobik akan memengaruhi waktu retensinya. Oleh karena itu, penggunaan campuran aquades dan metanol dalam fase gerak berperan dalam mengatur kekuatan elusi sehingga kafein dapat terelusi dengan baik dari kolom (Widhyani *et al.*, 2021).

### PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang menunjukkan nilai absorbansi maksimum. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan melakukan pemindaian larutan standar kafein 10 ppm menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang 200–400 nm. Pemilihan konsentrasi 10 ppm digunakan karena memberikan respon absorbansi yang cukup jelas untuk identifikasi puncak spektrum (Lestari *et al.*, 2023). Hasil penentuan panjang gelombang dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Spektra Panjang Gelombang Maksimum Kafein**

Berdasarkan gambar 3, diperoleh dua puncak absorbansi, yaitu pada 206 nm dengan nilai absorbansi 1,945 dan pada 273 nm dengan nilai absorbansi 0,794. Meskipun 206 nm menunjukkan absorbansi yang lebih tinggi, panjang gelombang tersebut berada pada daerah mendekati UV *cut-off* pelarut. Dalam penelitian ini digunakan fase gerak

aquades : metanol (75 : 25), di mana aquades memiliki UV *cut-off* sekitar 190 nm dan metanol sekitar 205 nm (Agilent, 2023). Pengukuran pada daerah mendekati UV *cut-off* berpotensi menimbulkan interferensi sehingga dapat memengaruhi akurasi hasil analisis.

Oleh karena itu, panjang gelombang 273 nm dipilih sebagai panjang gelombang kerja karena berada di luar daerah UV *cut-off* pelarut sehingga memberikan hasil yang lebih stabil dan minim interferensi. Pemilihan ini juga sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa kafein dapat dianalisis secara optimal pada panjang gelombang sekitar 270–275 nm (Moffat *et al.*, 2011). Dengan demikian, 273 nm digunakan sebagai panjang gelombang maksimum dalam analisis KCKT.

## VERIFIKASI METODE SELEKTIFITAS

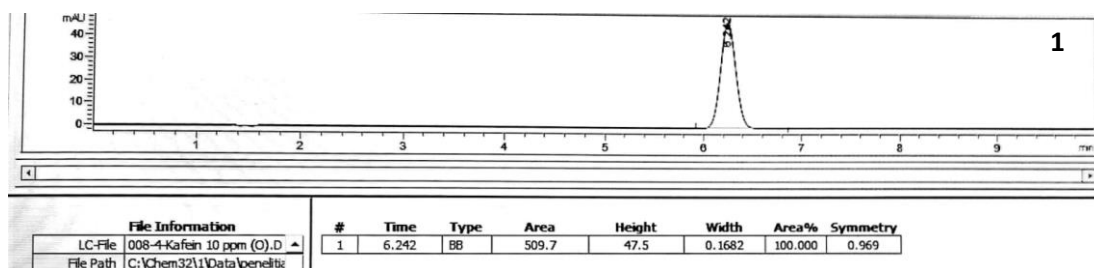
Selektivitas mengacu pada kemampuan suatu instrumen untuk secara spesifik mengukur zat tertentu dengan akurasi tinggi tanpa terpengaruh oleh komponen lain yang terdapat dalam sampel yang dapat memengaruhi hasil analisis (Listyaningrum, 2020). Uji selektivitas dilakukan dengan membandingkan hasil analisis larutan standar dengan matriks selain kafein yang terkandung di dalam sampel. Metode dinyatakan memenuhi parameter selektivitas apabila memiliki nilai daya pisah (resolusi) > 2. Hasil pengujian selektivitas disajikan pada tabel 4 dan gambar 4.

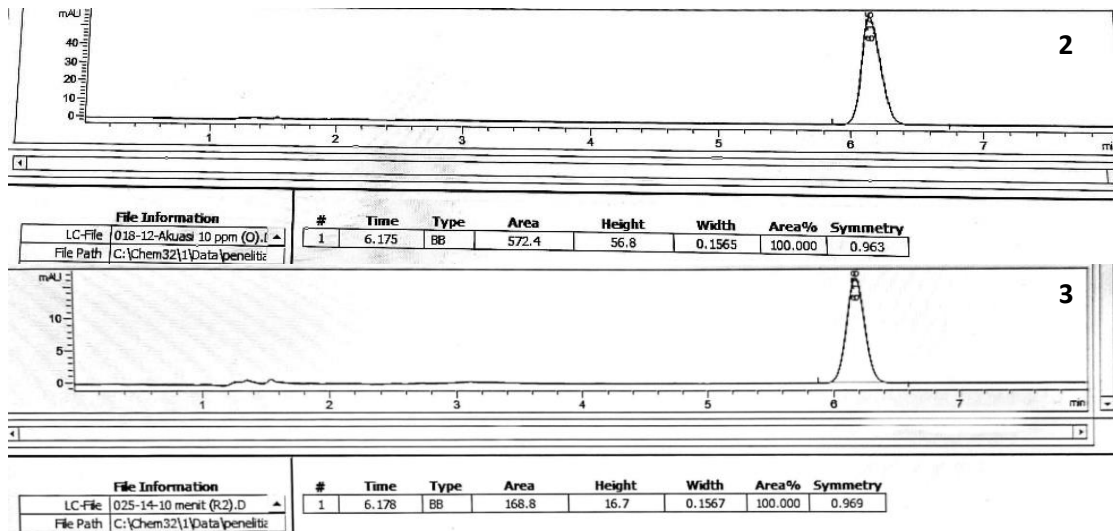
Tabel 4. Data Uji Selektivitas

Pengujian	Hasil	
	Waktu Retensi	Tinggi Puncak
Larutan standar 10 ppm	6,242	47,5
Larutan sampel	6,174	16,7
Campuran larutan standar dengan larutan sampel	6,175	56,8

Keterangan :

Pengujian dengan metode KCKT, kolom oktadesil C18, fase gerak aquades : metanol (75 : 25),  $\lambda_{max}$  273 nm, dan kecepatan alir 1 mL/menit.





**Gambar 4. Kromatogram Selektivitas (1) Larutan Standar 10 ppm (2) Larutan Sampel (3) Campuran Larutan Standar Dengan Larutan Sampel**

Berdasarkan tabel 4, kromatogram larutan standar kafein, larutan sampel, dan campurannya menunjukkan tidak adanya puncak lain selain puncak utama kafein, sehingga tidak terdapat interferensi senyawa lain dan nilai resolusi tidak dapat dihitung karena hanya muncul satu puncak utama. Tinggi puncak larutan standar 10 ppm sebesar 47,5, sedangkan larutan sampel sebesar 16,7, dan meningkat menjadi 56,8 pada campuran keduanya tanpa terbentuk puncak baru, yang menunjukkan adanya kontribusi sinyal dari penambahan standar. Kesamaan waktu retensi serta tidak adanya puncak pengganggu menunjukkan bahwa metode memiliki selektivitas yang baik dalam analisis kafein, dan hasil ini sejalan dengan Annuryanti *et al.* (2019) yang melaporkan peningkatan respons sinyal tanpa munculnya puncak interferen setelah penambahan standar.

### LINIERITAS

Uji linearitas dilakukan untuk mengevaluasi sejauh mana hubungan antara respon instrumen (Y) dan konsentrasi analit (X) dalam membentuk kurva kalibrasi (Sholehah, 2019). Pengujian dilakukan menggunakan enam seri konsentrasi (6–16 ppm) dengan tiga kali pengulangan untuk meningkatkan keandalan data. Data linieritas dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Data Linieritas**

Konsentrasi (ppm)	Luas Area		
	Repetisi 1	Repetisi 2	Repetisi 3
6	301,3	299,3	300,1
8	401,1	400,9	401,1
10	509,7	509,3	509,5
12	583,2	582,6	582,8
14	672,5	671,7	672,4
16	781,2	780	779,9
	<b>Y = 46,96x + 24,94</b> <b>r = 0,9987</b> <b>R<sup>2</sup> = 0,9974</b>	Y = 46,989x + 23,759 r = 0,9986 R <sup>2</sup> = 0,9972	Y = 46,946x + 24,564 r = 0,9986 R <sup>2</sup> = 0,9973

Keterangan :

Pengujian dengan metode KCKT, kolom oktadesil C18, fase gerak aquades:metanol (75:25),  $\lambda_{max}$  273 nm, dan kecepatan alir 1 mL/menit.

Hasil penelitian diketahui memenuhi persyaratan linearitas yaitu  $R^2 \geq 0,98$  (Kementerian Kesehatan RI, 2020), sehingga metode dinyatakan memiliki kemampuan kuantifikasi yang baik. Hasil ini juga konsisten dengan penelitian Perwitasari dan Beandrade (2020) serta Naegele (2016) yang menggunakan sistem KCKT fase terbalik dengan fase gerak aquades : metanol (75 : 25) dan memperoleh nilai  $R^2$  mendekati 1,00. Hal ini menunjukkan bahwa sistem KCKT yang digunakan memiliki kinerja yang stabil dan dapat diandalkan dalam analisis kuantitatif kafein.

## LOD DAN LOQ

Batas deteksi (LOD) adalah konsentrasi terendah analit yang masih dapat terdeteksi, sedangkan batas kuantitasi (LOQ) merupakan konsentrasi terendah analit yang masih dapat dikuantifikasi dengan ketelitian dan akurasi yang dapat diterima (Kementerian Kesehatan RI, 2020). Perhitungan berdasarkan parameter kurva kalibrasi, yaitu standar deviasi *intersep* (Sa) dan kemiringan kurva (*slope*,b), dengan bantuan Microsoft Excel. Hasil uji LOD dan LOQ dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6. Hasil Uji LOD dan LOQ**

Metode Analisis	Batas deteksi (LOD)	Batas Kuantitasi (LOQ)
Analisis kadar kafein	0,7102 ppm	2,1520 ppm

Keterangan :

Pengujian dengan metode KCKT, kolom oktadesil C18, fase gerak aquades : metanol (75:25),  $\lambda_{max}$  273 nm, dan kecepatan alir 1 mL/menit.

Hasil pengujian menunjukkan nilai LOD sebesar 0,7102 ppm dan LOQ sebesar 2,1520 ppm. Nilai tersebut menunjukkan bahwa metode KCKT yang digunakan memiliki kemampuan deteksi dan kuantifikasi yang cukup baik pada konsentrasi rendah. Dengan demikian, metode ini dapat digunakan untuk analisis kafein pada sampel kopi dengan tingkat sensitivitas yang memadai. Perbandingan dengan penelitian Susanti *et al.* (2019) menunjukkan nilai LOD dan LOQ yang lebih rendah, yaitu 0,565 ppm dan 1,88 ppm. Perbedaan ini dapat dipengaruhi oleh kondisi sistem analisis yang digunakan, termasuk komposisi fase gerak dan karakteristik instrumen KCKT yang digunakan, sehingga dapat memengaruhi sensitivitas deteksi senyawa.

## PRESISI

Uji presisi digunakan untuk menunjukkan kedekatan hasil antar pengukuran berulang terhadap nilai rata-rata, yang umumnya dinyatakan sebagai simpangan baku relatif (%RSD). Pada penelitian ini, presisi diuji menggunakan metode repetibilitas, yaitu pengukuran dilakukan oleh analis yang sama dengan kondisi dan peralatan yang identik dalam waktu yang relatif singkat. Uji dilakukan pada tiga level konsentrasi, yaitu 6 ppm, 10 ppm, dan 14 ppm, seperti ditunjukkan pada Tabel 7.

**Tabel 7. Data Uji Presisi**

Konsentrasi (ppm)	Repetisi	Waktu Retensi	Luas Area	Konsentrasi (ppm)	$\bar{x}$ Kadar (ppm)	SD	%RSD
6	I	6,166	404,7	8,0869	8,0812	0,0065	0,0805
	II	6,171	404,1	8,0741			
	III	6,171	404,5	8,0826			
10	I	6,175	572,4	11,6580	11,658	0	0
	II	6,182	572,4	11,6580			
	III	6,174	572,4	11,6580			
14	I	6,169	723,2	14,8693	14,8664	0,0049	0,0331

II	6,167	723,2	14,8693
III	6,167	722,8	14,8607

Keterangan :

$\bar{x}$  : Rata-rata

%RSD : persen *relative standard deviation*

SD : Standar Deviasi

Pengujian dengan metode KCKT, kolom oktadesil C18, fase gerak aquades : metanol (75 : 25),  $\lambda_{max}$  273 nm, dan kecepatan alir 1 mL/menit.

Nilai %RSD sebesar 0% pada konsentrasi 10 ppm menunjukkan bahwa tidak terdapat variasi hasil antar replikasi pada kondisi pengujian tersebut. Secara keseluruhan, seluruh nilai %RSD berada di bawah batas presisi yang ditetapkan, yaitu < 7,3% (AOAC, 2016), sehingga metode yang digunakan memiliki tingkat keterulangan (repeatabilitas) yang sangat baik. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian penelitian Garg and Bhardwaj (2024) serta Rahmawati *et al.* (2021) yang menggunakan sistem KCKT fase terbalik dengan fase gerak aquades : metanol dan memperoleh nilai %RSD < 2%, yang menunjukkan bahwa metode KCKT memiliki presisi yang baik dan dapat diandalkan untuk analisis kafein.

## AKURASI

Uji akurasi kafein dilakukan dengan menggunakan metode penambahan baku (*standar addition method*). Hal ini bertujuan agar dalam penggunaan suatu metode, hasil yang diperoleh dapat memberikan ketepatan yang sesuai baik pada konsentrasi rendah, sedang, maupun tinggi. Hasil data akurasi dengan 3 rentang konsentrasi yaitu 6, 10, dan 14 ppm dapat terlihat pada tabel 8.

Seluruh nilai %recovery pada setiap konsentrasi berada dalam rentang yang dipersyaratkan, yaitu 80–110% (AOAC, 2016), sehingga metode yang digunakan memiliki tingkat ketepatan yang baik dalam analisis kafein pada sampel kopi. Hasil ini sejalan dengan penelitian Listyaningrum (2020) dan Susanti *et al.* (2019) yang menggunakan sistem KCKT fase terbalik dengan fase gerak akuades:metanol dan memperoleh nilai %recovery yang memenuhi persyaratan. Dengan demikian, metode yang digunakan dinyatakan layak dan akurat untuk analisis kafein.

**Tabel 8. Data Uji Akurasi**

Konsentrasi (ppm)	Repetisi	Waktu Retensi	Luas Area	Konsentrasi (ppm)	$\bar{x}$ kadar (ppm)	%Recovery
6	I	6,166	404,7	8,0869	8,0812	83,5581
	II	6,171	404,1	8,0741		
	III	6,171	404,5	8,0826		
10	I	6,175	572,4	11,6580	11,6580	85,9029
	II	6,182	572,4	11,6580		
	III	6,174	572,4	11,6580		
14	I	6,169	723,2	14,8693	14,8664	84,2764
	II	6,167	723,2	14,8693		
	III	6,167	722,8	14,8607		

Keterangan :

$\bar{x}$  : Rata-rata

Pengujian dengan metode KCKT, kolom oktadesil C18, fase gerak aquades : metanol (75:25),  $\lambda_{max}$  273 nm, dan kecepatan alir 1 mL/menit.

Sebuah metode analisis harus menghasilkan data yang dapat diandalkan, sehingga diperlukan proses verifikasi atau validasi sebelum metode tersebut diterapkan dalam pengujian. Pada penelitian ini parameter verifikasi yang diuji adalah selektifitas,

linieritas, LOD, LOQ, presisi, dan akurasi. Hasil dari seluruh parameter verifikasi yang didapatkan sudah memenuhi persyaratan, sehingga metode analisis yang digunakan dapat dipakai untuk menganalisis kadar pada sampel kopi.

### PENETAPAN KADAR SAMPEL

Penetapan kadar kafein dalam sampel dilakukan pada panjang gelombang 273 nm, yang merupakan panjang gelombang serapan maksimum kafein, dengan faktor pengenceran sebesar 10 kali. Pengenceran dilakukan untuk menurunkan konsentrasi sampel agar berada dalam rentang kurva kalibrasi sehingga kadar kafein dapat dihitung melalui interpolasi. Perhitungan berdasarkan nilai di luar rentang kurva kalibrasi (ekstrapolasi) dapat menurunkan ketepatan dan keandalan hasil analisis. Oleh karena itu, konsentrasi sampel harus berada dalam rentang kurva kalibrasi agar hasil penetapan kadar lebih akurat (Rosidi, 2019).

Hasil penetapan kadar menunjukkan bahwa seluruh sampel memiliki nilai %RSD < 7,3% sehingga keterulangan analisis dapat dinyatakan baik berdasarkan kriteria AOAC (2016). Secara umum, kadar kafein pada sampel kopi berada pada rentang rendah (< 0,01% b/b), dengan perbedaan nilai antar perlakuan waktu sangrai. Kopi *green bean* menunjukkan kadar kafein terendah, kemudian meningkat pada perlakuan penyangraian 10 menit, dan selanjutnya mengalami penurunan pada penyangraian 15 menit hingga 20 menit.

Kadar kafein kopi *green bean* lebih rendah dari pada kopi yang sudah disangrai dikarenakan proses sangrai menyebabkan hilangnya kandungan air sehingga persentase kadar kafein akan mengalami peningkatan, sehingga kopi yang disangrai memiliki kadar kafein yang lebih tinggi dibandingkan kopi *green bean* (Rianse *et al.*, 2020). Selain itu, pada proses penyangraian sebagian kafein akan mengalami sublimasi menjadi kafeol, sehingga kadar kafein pada kopi arabika menjadi berkurang. Kafeol merupakan senyawa yang akan menciptakan aroma yang khas pada kopi (Wulansari dan Evangelista, 2019). Perubahan kadar tersebut juga berkaitan dengan dinamika senyawa dalam proses penyangraian, di mana pemanasan mempengaruhi kestabilan dan distribusi senyawa dalam matriks kopi.

**Tabel 9. Penetapan Kadar Kafein**

Sampel Kopi	Replikasi	Luas Area	Kadar (ppm)	%kadar (%b/b)	Rata-rata (%b/b)	SD	%RSD	Sig.
<i>Green bean</i>	I	149,8	2,6589	0,0066	0,0065	0,0002	2,3133	0,000
	II	147,7	2,6141	0,0065				
	III	144,2	2,5396	0,0063				
S10 menit	I	203,2	3,7960	0,0095	0,0096	0,0002	2,1006	
	II	203,9	3,8109	0,0095				
	III	210,1	3,9429	0,0099				
S15 menit	I	192,2	3,5618	0,0089	0,0088	0,0001	1,5897	
	II	187,3	3,4574	0,0086				
	III	191,4	3,5447	0,0089				
S20 menit	I	164,1	2,9634	0,0074	0,0074	0,0002	3,0869	
	II	167,5	3,0358	0,0076				
	III	159	2,8548	0,0071				

Keterangan :

S : Sangrai,  $\bar{x}$  : Rata-rata, dan %RSD : persen *relative standard deviation*

SD : Standar Deviasi, dan Sig. : nilai signifikansi (p-value)

Pengujian dengan metode KCKT, kolom oktadesil C18, fase gerak aquades:metanol (75:25),  $\lambda_{max}$  273 nm, dan kecepatan alir 1 mL/menit.

Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa semakin lama waktu sangrai kopi maka akan semakin kecil kadar kafein yang terkandung dalam kopi. Hal ini dibuktikan oleh Pamungkas *et al.* (2021) yang melakukan penyangraian kopi arabika dengan suhu 210°C dan variasi waktu sangrai 5 menit, 10 menit, dan 15 menit memberikan hasil kadar kafein dengan berturut-turut yaitu 0,89%, 0,86%, dan 0,85%. Selain itu, pada penelitian lainnya oleh Heriana *et al.* (2023) yang menyangrai kopi liberika dengan suhu 220°C dan variasi waktu 10 menit, 12 menit, dan 14 menit menunjukkan hasil kadar kafein berturut-turut yakni 1,13%, 0,95%, dan 0,83%. Kedua penelitian tersebut memiliki jenis kopi dan variasi waktu sangrai yang berbeda dan memberikan hasil kadar kafein yang berbeda juga, sehingga jenis kopi dan variasi waktu sangrai juga berpengaruh terhadap kadar kafein.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa sampel kopi yang digunakan menunjukkan data yang terdistribusi normal. Uji normalitas dilakukan menggunakan nilai signifikansi dari uji *Shapiro-Wilk*, mengingat jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50. Distribusi data dikatakan normal karena hasil pengujian *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai signifikansi ( $p\text{-value} > 0,05$ ), kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas yang memperoleh nilai signifikansi *Based on Mean* sebesar 0,754 ( $p\text{-value} > 0,05$ ), sehingga data tersebut dikatakan homogen. Hasil uji *One way ANOVA* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ( $p\text{-value} < 0,05$ ) yang artinya terdapat perbedaan kadar kafein pada biji kopi arabika yang dipengaruhi oleh waktu sangrai, atau dapat diartikan bahwa terdapat pengaruh lama waktu sangrai terhadap kadar kafein pada biji kopi arabika. Hasil yang diperoleh sudah sejalan dengan penelitian Darajat *et al.* (2023) dan Lessy *et al.* (2023) yang memperoleh nilai signifikansi pada uji *One way ANOVA*  $p\text{-value} < 0,05$ , sehingga menandakan bahwa perbedaan kadar kafein pada kopi dapat dipengaruhi oleh variasi waktu sangrai.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, kopi arabika yang dianalisis menunjukkan kandungan kafein pada seluruh perlakuan waktu sangrai dengan variasi kadar yang berbeda. Secara umum, terdapat perubahan kadar kafein yang dipengaruhi oleh lama waktu penyangraian, dengan kecenderungan peningkatan kadar pada penyangraian awal (10 menit) dan penurunan pada waktu penyangraian yang lebih lama (15 menit dan 20 menit). Hasil analisis statistik menggunakan *One Way ANOVA* menunjukkan nilai signifikansi  $p\text{-value} < 0,05$ , yang mengindikasikan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antara lama waktu sangrai terhadap kadar kafein pada biji kopi arabika.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada STIKes Mitra Keluarga yang telah menyediakan fasilitas laboratorium sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, serta kesabaran selama proses penyusunan dan pelaksanaan penelitian. Selain itu, apresiasi juga diberikan kepada seluruh pihak yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdoli, F., Davoudi, M., Momeni, F., Djafari, F., Dolatshahi, B., Hosseinzadeh, S., Aliyaki, H., and Khalili, Z. (2024). Estimate The Prevalence of Daily Caffeine Consumption, Caffeine Use Disorder, Caffeine Withdrawal and Perceived Harm in Iran: A Cross-Sectional Study. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-58496-8>
- Abur, H. M. C. (2021). *Analisis Kadar Kafein pada Kopi Dekafeinasi Jenis Arabika (Coffea Arabica L.) dan Robusta (Coffea Canephora) yang Dijual di Marketplace A dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.* (Skripsi Sarjana. STIKes Mitra Keluarga).
- Adeleye, Q. A., Attama, C. M., Egbeobauwaye, O., and Angela, O. (2023). Psychosis Following Caffeine Consumption in A Young Adolescent: Review of Case and Literature. *Annals of African Medicine*, 22(3), 392–394. [https://doi.org/10.4103/aam.aam\\_28\\_22](https://doi.org/10.4103/aam.aam_28_22)
- Agilent. (2023). Solvent Polarities and Elution Strength, UV Cut-offs and Refractive Indices. *Agilent Technologies*. <https://community.agilent.com/technical/consumables/w/wiki/21652/solvent-polarities-and-elution-strengths-uv-cut-offs-and-refractive-indices>
- Annuryanti, F., Zahroh, M., dan Purwanto, D. A. (2019). Pengaruh Suhu dan Jumlah Penyeduhan terhadap Kadar Kafein Terlarut dalam Produk Teh Hijau Kering dengan Metode KCKT. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(1), 30. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v5i12018.30-35>
- AOAC. (2016). Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. *Association of Analytical Communities Official Methods of Analysis*.
- Ariyanto, S. E., Alpandari, H., Suhariyanto, dan Sridjono, H. H. H. (2024). Pengaruh Suhu dan Lama Penyangraian Terhadap Sifat Fisik Kopi Robusta Tempur. *Jurnal Galung Tropika*, 13(1), 107–116. <https://doi.org/10.31850/jgt.v13i1.1165>
- Darajat, A., Rifqi, M., dan Nurlaela, R. S. (2023). Pengaruh Waktu Penyangraian terhadap Karakteristik Fisikokimia Kopi Bubuk Robusta Menggunakan Mesin Roasting Elektrik. *Jurnal Agroindustri Halal*, 9(3), 365.
- Elfariyanti, Silviana, E., dan Santika, M. (2020). Analisis Kandungan Kafein pada Kopi Seduhan Warung Kopi di Kota Banda Aceh. *In Lantanida Journal* (Vol. 8, Number 1). <https://pixabay.com>
- Firmansyah, B. T., Fandyka, Y. A., Setyoko, U., dan Alwi, A. L. (2024). Karakterisasi Morfologi Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L.) di Kawasan Desa Sempol Kecamatan Ijen Kabupaten Bondowoso. Peningkatan Ketahanan Pangan Melalui Adaptasi Perubahan Iklim Untuk Pertanian Berkelanjutan. *Agrotech*, 3.
- Garg, A. K., and Bhardwaj, S. K. (2024). Simultaneous determination of Paracetamol and Caffeine by RP-HPLC method in the tablet dosage form Introduction. *African Journal of Biological Sciences*, 6(3). <https://doi.org/10.33472/AFJBS.6.3.2024.251-258>
- Heriana, Sukainah, A., dan Wijaya, M. (2023). Pengaruh Suhu dan Waktu Penyangraian Terhadap Kadar Kafein dan Mutu Sensori Kopi Liberika (*Coffea liberica*) Bantaeng. *Patani*, 6.

- Johannes, E., Latunra, A. I., Mulihardianti, B., dan Sumule, O. (2021). Analisis Kandungan Kafein Kopi (*Coffea arabica*) Pada Tingkat Kematangan Berbeda Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, (12). <https://journal.unhas.ac.id/index.php/jai2>
- Kementerian Kesehatan RI. (2020). Farmakope Indonesia Edisi VI 2020 Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (6th ed.).
- Kusmiyanti, M., Trinovani, E., Suryaningthias, P., dan Rhamadianto, M. I. (2023). Penetapan Kadar Kafein dalam Kopi Rempah Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Pharmauho: Jurnal Farmasi*, 2023(2). <https://doi.org/10.3372/pharmauho.v9i2.47>
- Lessy, S. N., Ega, L., dan Breemer, R. (2023). Pengaruh Metode Fermentasi dan Lama Penyangraian terhadap Cita Rasa Kopi Tuni Asal Maluku. *Jurnal Agrosilvopasture-Tech*, 2(2), 386–393. <https://doi.org/10.30598/j.agrosilvopasture-tech.2023.2.2.386>
- Lestari, A., Okzelia, S. D., dan Whyuni. (2023). Analisis Kadar Kafein pada Minuman Kopi Kekinian di Bekasi Timur dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pharmascience*, 10(2), 209–222. <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience>
- Listyaningrum, L. (2020). *Validasi Metode Uji Kafein Dalam Minuman Kopi Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) di PT. Saraswanti Indo Genetech Bogor*. (Laporan Tugas Akhir. Universitas Islam Indonesia).
- Maskar, R., dan Faisal. (2022). Analisis Kadar Kafein Kopi Bubuk Arabika di Sulawesi Selatan Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. *Gorontalo Agriculture Technology Journal*, 5(2).
- Mierza, V., Aenah, N., Nurlaela, Fransiska, A. N., Malik, L. H., dan Wulanbirru, P. (2023). Literatur Review: Analisis Kadar Kafein Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasetis*, 12(1).
- Moffat, A. C., Osselton, M. D., and Widdop, B. (2011). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons* (Ed.; 4th ed.). London: Pharmaceutical Press.
- Naegele, E. (2016). Determination of Caffeine in Coffee Products According to DIN 20481. *Agilent Technologies*.
- Noerfitri, Anindita, R., Sianturi, R., dan Pradana, A. A. (2023). Manajemen Analisis Data (1st ed.). Matematika.
- Pamungkas, M. T., Masrukan, dan Kuntjahjawati. (2021). Pengaruh Suhu dan Lama Penyangraian (Roasting) terhadap Sifat Fisik dan Kimia pada Seduhan Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L.) dari Kabupaten Gayo, Provinsi Aceh. *Agrotech*, 3(2).
- Perwitasari, M., dan Beandrade, M. U. (2020). *Validasi Metode Analisa Kafein dalam Kopi Bubuk Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. (Working Paper. STIKes Mitra Keluarga).
- Puspitasari, R. (2020). *Pengaruh Komposisi Jenis Kopi dan Lama Penyangraian terhadap Karakteristik Kopi Bubuk Berdasarkan Standarisasi Nasional Indonesia*. (Skripsi Sarjana. Universitas Sriwijaya).

- Rahmawati, A. I., Wirasti, dan Rejeki, H. (2021). *Analisis Kadar Kafein Pada Produk Bubuk Kopi Murni yang Dihasilkan Di Kabupaten Pekalongan Menggunakan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. Universitas Muhammadiyah Pekajang.
- Rahmawati, I., dan Gustiani, L. T. (2023). Analisis Kafein pada Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Gununghalu Teknik Light Roasting. *Kimia Padjajaran*, 1(2).
- Randriani, E., dan Dani. (2018). *Pengenalan Varietas Unggul Kopi* (Eds.; 2nd ed.). Jakarta: IAARD Press.  
<https://repository.pertanian.go.id/server/api/core/bitstreams/923c947f-21d3-4cb2-8204-e13a2caf956b/content>
- Rianse, M. S., Nurasyik, dan Sakir. (2020). Pengaruh Suhu dan Lama Penyangraian terhadap Karakteristik Organoleptik dan Sifat Fisikomia Bubuk Kopi Robusta Asal Desa Lalemba Kabupaten Muna Barat. *Jurnal Riset Pangan*, 2(1).
- Rosidi, M. (2019). *Interpolasi dan Ekstrapolasi. In Metode Numerik Menggunakan R Untuk Teknik Lingkungan*. Bandung: RStudio.
- Salang, I., Rohadi, dan Putri, A. S. (2022). *Pengaruh Lama Waktu Sangrai Terhadap Kadar Kafein, Keasaman, Warna, Bubuk Kopi Robusta Kabupaten Lembata dan Daya Terima Tergadap Seduhannya*. Universitas Semarang.
- Saputri, F. A., & Muchtaridi, M. (2018). Analytical method development and validation for the determination of caffeine in green coffee beans (*Coffea arabica* L.) from three districts of West Java, Indonesia by high performance liquid chromatography. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 10(6), 107–111.
- Sholehah, C. W. M. (2019). *Analisa Kadar Kafein pada Kopi Jenis Robusta dengan Menggunakan Spektrofotometri Ultraviolet*. (Skripsi Sarjana. Institut Kesehatan Helvetia).
- Sihombing, R. R. R., Priyono, S., dan Hartanti, L. (2022). The Effect of Exselsa Coffee Roasting Temperature and Time on The Physicochemical and Sensory Properties of Coffee Powder. *Jurnal Teknologi Pangan*, 1(1), 1–12.  
<https://doi.org/10.26418/jft.v6i1.65999>
- Suci, P. R., Angel, V., dan Aini, N. (2024). Perbandingan Variasi Lamanya Waktu Penyangraian terhadap Kadar Kafein pada Biji Kopi Robusta Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 4(1), 187–197. <https://doi.org/10.55606/jikki.v4i1.2975>
- Susanti, H., Araaf, N. P. M., Gunanto, D., dan Kusbandari, A. (2019). Perbandingan Metode Spektrofotometri UV dan HPLC pada Penetapan Kadar Kafein dalam Kopi. *Majalah Farmasetika*, 4(4). <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v4i0.25887>
- Utari, G. A. M. K. S. (2020). *Hubungan Konsumsi Kopi dengan Kualitas Tidur Pada Remaja Di Teras Temu Kopi Tabanan*. (Skripsi Sarjana. Institut Teknologi dan Kesehatan Bali).
- Widhyani, R., Rahmasari, K. S., Kristiyanti, R., dan Slamet. (2021). Penetapan Kadar Kafein Pada Teh Kering Kemasan Produksi Industri Teh di Pekalongan. *Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(1).
- Wiraputra, D. (2024). Review: Teknologi Pengolahan Biji Kopi Hijau dan Peranannya dalam Pembentukan Komponen Rasa Biji. *Journal of the Science of Food and*

*Agriculture Damar Wiraputra, 1(1), 56–68.*

<https://journal.uniga.ac.id/index.php/JOSFA/index>

Wulansari, D., dan Evangelista, E. A. (2019). *Pengaruh Perbedaan Ukuran Partikel dan Teknik Ekstraksi Kopi terhadap Kadar Kafein pada Ekstrak Kopi Robusta (Coffea canephora)*. (Skripsi Sarjana. Universitas Brawijaya).

Zainuri, Paramartha, D. N. A., Fatinah, A., Nofrida, R., Rahayu, N., Anggraini, I. M. D., dan Utama, Q. D. (2023). The Chemical Characteristics of Arabica and Robusta Green Coffee Beans from Geopark Rinjani, Indonesia. *Biotropia*, 30(3), 318–328. <https://doi.org/10.11598/btb.2023.30.3.1940>